·综 述·

蛋白降解靶向嵌合体分子药代动力学及其生物分析方法的研究进展

王宇昕[1,2,3]，徐智儒[1,2,3]*

（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 中国医药工业研究总院，上海医药工业研究院创新药物与制药工艺国家重点实验室，上海 200437；3. 上海市生物物质成药性评价专业技术服务中心，上海 200437）

摘要：蛋白降解靶向嵌合体（proteolysis-targeting chimera，PROTAC）是一种靶向蛋白质降解的新技术，在生物医药领域受到极大关注。PROTAC 分子通过泛素 - 蛋白酶体系诱导目标蛋白降解能快速、高效地耗竭靶蛋白，并可再次结合底物，实现多次泛素化反应，能一定程度上优化传统小分子表现的剂量依赖性。然而，这种独特化学结构及作用机制也给其体内外药代动力学研究带来诸多挑战，主要包括溶解度不佳、渗透性不好、口服吸收差及生物利用度低等。该文以 PROTAC 分子的物理化学性质为出发点，分析药代动力学特征，并概述此类药物的生物分析方法，讨论 PROTAC 技术面临的挑战和前景，为 PROTAC 药物领域的创新研发及难点突破提供参考。

关键词：蛋白降解靶向嵌合体；药代动力学；生物分析方法

中图分类号：R969.1；R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2025）05-0516-007

引用：王宇昕, 徐智儒. 蛋白降解靶向嵌合体分子药代动力学及其生物分析方法的研究进展[J]. 世界临床药物, 2025, 46(5): 516-522. DOI：10.13683/j.wph.2025.05.015

Advances in pharmacokinetics and bioanalytical methods for proteolysis-targeting chimera

WANG Yuxin[1,2,3], XU Zhiru[1,2,3]*

（*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China; 2. State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co.,Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry，Shanghai 200437, China; 3. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Druggability Evaluation, Shanghai 200437, China*）

Abstract: Proteolysis-targeting chimera（PROTAC） is a new technology for targeting protein degradation that has received great attention in the biomedical science community. PROTAC molecules can quickly and efficiently deplete target proteins by inducing degradation of target proteins using the ubiquitin-protease system, and can bind to substrates again to achieve multiple ubiquitination reactions, optimizing the dose dependence and drug resistance of traditional small molecules to a certain extent. However, this unique chemical structure and mechanism of action also brings many challenges to its *in vivo* and in *vitro* pharmacokinetic studies, mainly including poor solubility, poor permeability, poor oral absorption, and low bioavailability. Starting from the analysis of the physicochemical properties of PROTAC molecules, this article analyzed the pharmacokinetic characteristics and summarized the bioanalysis methods of such drugs. It also discussed the challenges and prospects of PROTAC technology, providing a reference for innovative research and breakthroughs in the field of PROTAC drugs.

Key words: proteolysis-targeting chimera ; pharmacokinetics; bioanalytical methods

收稿日期：2024-11-21

作者简介：王宇昕，硕士研究生，研究方向：药物代谢动力学、药物效应动力学。

通信作者：徐智儒，博士，研究员，研究方向：新药临床前药物代谢动力学、中药药效物质基础研究、毒物相关的筛查及体内外代谢机制研究。

近二十年来，蛋白降解靶向嵌合体（proteolysis-targeting chimera，PROTAC）作为一种靶向蛋白质降解的新型分子在生物医药领域受到极大关注。PROTAC 分子通过连接子同时与靶向目标蛋白和 E3 泛素连接酶结合形成三元复合物，利用泛素 - 蛋白酶体系诱导目标蛋白降解[1]。在给药后能快速、高效地耗竭目标蛋白，并可再次结合底物，实现多次泛素化反应。这种作用机制使其能以更低的剂量、更长的给药间隔就达到一定的药效，优化传统小分子药物表现的剂量依赖性[2]。然而，PROTAC 独特的化学结构及作用机制也给其体内外药代动力学研究带来诸多挑战，主要存在相对分子质量大、溶解度不佳、渗透性不好及口服吸收差等问题[3]。本文对 PROTAC 分子的药代动力学特征，包括吸收、分布、代谢及排泄等方面进行综合梳理、阐述，并概述目前所开发的 PROTAC 生物分析方法，以期为 PROTAC 药物的研发提供参考。

1 PROTAC 分子的结构特点

PROTAC 分子主要由靶蛋白（protein of interest，POI）配体、连接子（连接子）及 E3 泛素连接酶配体 3 部分组成。首先，E1 泛素激活酶与泛素标签结合，将泛素标签转移到 E2 泛素结合酶上；E2 泛素结合酶与 E3 泛素连接酶结合，当 E3 泛素连接酶在 PROTAC 分子的作用下与靶蛋白结合时，泛素转移到靶蛋白上；最后形成的多聚靶蛋白被蛋白酶系特异性识别并降解[4]。

截至 2024 年，PROTAC-DB 3.0 数据库已更新了 6 111 个 PROTAC 分子、569 个 POI 配体、107 个 E3 配体及 2 753 个连接子[5]。已有多种靶蛋白可通过该策略实现降解，包括核受体、蛋白激酶、肿瘤抑制因子、转录因子及细胞代谢酶等[6—8]。在已公布的高活性 PROTAC 化合物中，常见的 E3 配体包括小脑蛋白、肿瘤抑制因子及细胞凋亡抑制蛋白 3 种。其中小脑蛋白体积相对较小，在多数组织中广泛表达，且具有较高的降解效率，在口服生物利用度方面有更好的表现[2]。连接子对三元复合物的理化性质及生物活性均有至关重要的影响，其长度及灵活性决定了三元复合物形成的速度、空间邻近性以及 POI 有效泛素化修饰效率[9]。

2 PROTAC 分子药代动力学特征

2.1 吸收

PROTAC 分子的相对分子质量较大（700 ～ 1 200 Da），超过了类药五原则的限制。其主要物理化学特征包括高极性表面积、高亲脂性、灵活的氢键供受体、大量可旋转键以及较差的溶解度、渗透性[10]，这使得 PROTAC 药物存在代谢稳定性差及口服生物利用度低等问题。

单层细胞的常规渗透性检测如平衡扩散法及 Caco-2 细胞模型，可能因 PROTAC 分子在检测缓冲液中的溶解性及非特异性结合问题而导致回收率低或表观渗透性值不准确，通过添加辅料（如牛血清白蛋白），可在一定程度上缓解这些问题，但找到通用于所有 PROTAC 分子的测定条件仍具有挑战性[11]。目前，WANG 等[12] 开发并验证了一种高通量的超临界流体色谱 -MS/MS 方法用于测量有效极性表面积（effective polar surface area，EPSA）以及预测人体渗透性。与平衡扩散法不同，EPSA 可有效捕获 PROTAC 分子构象变化对极性的影响，使其成为预测渗透性的更优选择。

现阶段的研究重点倾向于已知的小脑蛋白靶向分子，典型的配体如沙利度胺（thalidomide）及泊马度胺（pomalidomide）等。这类 PROTAC 药物的分子量相对较低，具有较好的亲脂性及口服生物利用度（＞ 30%），更具口服成药性特征[13—14]。除脂溶性外，PROTAC 分子的溶解度、渗透性还与其分子形状、柔性、刚性及解离常数等因素密切相关[15]。

部分 PROTAC 分子存在“变色龙性”，即其分子构象会随所处环境发生变化，合理优化设计药物结构是改善 PROTAC 药物吸收的关键[16]。由于 POI 配体和 E3 配体的结构受构效关系及靶标结合

的限制，连接子在结构修饰方面为PROTAC优化提供了极大的灵活性。连接子的组成及长度可以影响PROTAC的最终固有溶解度、渗透性及代谢稳定性。理论上含有环状可电离基团的短亲脂性连接子更易产生渗透性、溶解性更强的化合物。研究[17—18]表明，用饱和氮杂环（如哌啶或哌嗪）取代传统的线性烷基聚乙二醇分子可显著提高化合物的溶解度，从而产生更强效的降解剂；同样，将极性哌嗪和嘧啶分子加入到连接体中也会产生更易溶解和更强效的化合物。但杂环分子会增加连接子的刚性，可能改变三元复合物的整个几何形状，从而影响药效，故在引入刚性更强的连接子之前，应确定好PROTAC的最佳空间构象[9]。

此外，通过对PROTAC分子进行结构修饰、设计前药以及选择合适的剂型等方法可提高此类药物的膜渗透性。例如在PROTAC分子的配体上添加亲脂基团得到前药[19]，或通过纳米递送系统、自乳化递送系统增加药物的体内暴露量[20—21]，从而改善药代动力学特征。

2.2 分布

PROTAC药物因其高亲脂性特点而具有较高的血浆蛋白结合率（plasma protein binding, PPB），大多数可达90%～99%[22]，因此预计PROTAC药物的未结合血浆蛋白分数（unbound fraction，f_u）较低，会影响到药物的分布、消除。由于反应过程中PROTAC会与纤维素膜结合，通过快速平衡透析法测定f_u值存在化合物回收率低的问题。而采用改进的预饱和法即孵育18小时，能够改善非特异性结合的问题[23]。但由于样本过少，PPB技术还需进一步的测定调整。除此之外，药物能否通过血脑屏障高度依赖于药物的物理化学特性、被动扩散以及摄取、外排转运蛋白，而PROTAC药物也难以透过血脑屏障到达脑内靶细胞治疗中枢神系统疾病，这可能是由于血脑屏障转运蛋白的活跃外排[24—25]。值得注意的是，通过形成三元复合物来发挥作用的分子可能会出现“钩子效应”，如PROTAC与双抗。当药物浓度低时，优先形成三元复合物；随着浓度的增高，药效越来越强，当超过一个临界点之后，三元复合物的形成量反而减少。这是因为此时过量的PROTAC分子会使得“PROTAC-靶蛋白”与“PROTAC-E3连接酶”之间的二元复合物占比逐渐增高，导致药效减弱。针对此类情况，研究者设计出一种纳米载药平台的PROTAC（Nano-PROTACs），其具有中心辐条降解网络，可在肿瘤中实现有效的剂量依赖性蛋白质降解[26]。有学者提出，定义PROTAC分子中的协同值为二元复合与三元复合物解离常数的比值，该值越大亲和力越好[27]。由此可见，亲和力并非越高越好，而是需要在两端亲和力上达到优良的协同性。

2.3 代谢

PROTAC药物的代谢主要依靠细胞色素（cytochrome，CY）P450介导，如Ⅰ相代谢酶（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6和CYP3A等），部分反应可能以Ⅱ相转移酶（尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶、硫酸转移酶、谷胱甘肽硫转移酶）作为主要的代谢途径[22]。但PROTAC因其高亲脂性在肝脏微粒体或肝细胞体系中表现出低代谢清除。HALLIFAX等[28]研究发现，对于部分肿瘤抑制因子作为E3连接酶的PROTAC分子，肝细胞与肝微粒体固有清除率存在明显差异。在这类PROTAC药物中，醛氧化酶可能会参与代谢，催化噻唑环发生羟化[29]。此外，有些PROTAC分子的连接子是由酰胺或酯键构成，其水解代谢途径以酰胺酶及酯酶为主要代谢酶。

PROTAC药物的药代动力学、药效动力学研究还需充分考虑代谢产物的影响。PROTAC分子的代谢速率与单个配体相比有所差异，故不能通过简单加合各组成部分的代谢特征来准确判断PROTAC分子的代谢特征，需对其整体进行代谢产物研究。

2.4 排泄

现有研究[10]表明 PROTAC 药物以肝代谢为主要排泄途径，胆道及肾脏清除并非主要清除途径，而排泄到粪便及尿液中的量可忽略不计。这可能与 PROTAC 分子的高 PPB 及有限的肾脏转运蛋白运输潜力有关。此外，研究[25,30]显示，外排转运蛋白 P-糖蛋白及多药耐药基因 1 与 PROTAC 的肿瘤细胞耐药性有关，因此推测其胆汁排泄可能由外排转运蛋白介导。PROTAC 药物或其代谢物在肝细胞中的摄取可能是由溶质载体转运蛋白介导[31]。但由于临床数据稀少，还需深入探索基于体外微粒体及肝细胞清除率数据来预测 PROTAC 药物体内清除率的准确性，并应补充关于 PROTAC 药物作为肾脏或者肝胆排泄转运蛋白底物的研究，为阐明 PROTAC 药物体内排泄途径提供更多依据。

3 PROTAC 药物的生物分析方法

PROTAC 药物由于其独特的双功能小分子结构及多步骤作用机制，在生物分析方法开发过程中往往受到诸多因素的制约。而生物分析方法在药代动力学研究过程中至关重要，因此，开发出灵敏度更高、专属性更强的生物分析方法对于推进 PROTAC 药物发展具有重要意义。

3.1 PROTAC 药物生物分析方法研究进展

目前用于 PROTAC 药物检测的分析技术主要有 LC-MS/MS、HPLC、核磁共振波谱法（nuclear magnetic resonance spectroscopy，NMR）、表面等离子体共振（surface plasmon resonance，SPR）及纳米生物发光共振能量转移等。NGUYEN 等[32]开发并验证了一种 LC-MS/MS 方法，用于测定大鼠及小鼠 PROTAC 分子 ARV-110 血浆水平，该方法在 2 ～ 3 000 ng/mL 的浓度范围内表现出良好的线性。NIESSEN 等[33]开发并验证了用于定量大鼠血浆 ARV-110 及 ARV-471 水平的两种 LC-MS/MS 方法，均具有较高的灵敏度，并将定量下限降至 0.5 ng/mL。WANG 等[34]开发出了一种 PROTAC 药物 LC-2 的聚乙二醇化脂质体，可保护 LC-2 免受内源蛋白结合的影响，改善不溶性，提高系统生物利用度，并同时建立 LC-MS/MS 方法检测大鼠血浆 LC-2 水平。对于需要进一步结构鉴定确认的 PROTAC 分子及其代谢物可同时进行 ^{1}H-NMR 测定及 LC-MS/MS 分析[35]。KANG 等[36]还提出一种两次 LC-MS/MS 检测法，先测量完整的蛋白质质量以迅速确定结合化合物的分子量的增加，再用蛋白酶（例如胰蛋白酶或谷氨酸 C 内切蛋白酶）消化目标蛋白，以确定肽片段分子量的增加。用蛋白酶消化后进行肽片段而不是完整蛋白质进行分析，实现高灵敏度以及准确度的分子量测定。

此外，SPR 技术能够实时检测 PROTAC 分子在金属表面上的结合及解离，可用于分子结合动力学及亲和力测定。ROY 等[37]开发了一种基于 SPR 的测定方法来测量 PROTAC 三元复合物的解离动力学，发现三元复合物的解离半衰期与细胞内靶标降解密切相关。纳米生物发光共振能量转移技术可用于分析活细胞内 PROTAC 分子的相互作用。RICHING 等[38]开发了一套纳米生物发光共振能量转移检测方法用于测定 PROTAC 分子三元复合物的形成、靶向降解途径及靶蛋白水平。

未来，随着 PROTAC 药物研究的不断推进，这些分析方法将不断被优化，以满足更加精确、灵敏的分析需求。

3.2 PROTAC 药物生物分析方法开发难点

PROTAC 生物分析研究所面临的难题主要有以下几方面：①相对分子质量大，在质谱中易出现多电荷离子。②易发生源内裂解。③多个手性中心，异构体间相互转化，色谱峰可能出现裂峰。④易发生非特异性结合。⑤体内代谢与稳定性问题。

首先，因 PROTAC 药物肠道渗透性及溶解度较低，加上高亲脂的 PROTAC 与材料吸附和细胞结合的倾向，通常会导致基质浓度远低于分析方法的定量下限[39]。MS 和紫外线通常被用于查找、半定量

和阐明代谢物的结构，但 PROTAC 分子的代谢物通常具有与母体化合物不同的检测特征。通过电喷雾电离分析 PROTAC 时通常会产生质子化分子离子、双电荷离子或源内解离成降解离子的复杂混合物。同样，在 POI 和 E3 配体具有不同的紫外线发色团的情况下，连接子裂解的代谢物可能与母体化合物的消光系数不同，从而显著降低数据的准确性[40]。其次，由于 PROTAC 分子通常具有多个手性中心，每种手性中心的异构体都会形成不同的立体构型，但其质谱信号几乎一致。这导致手性异构体在质谱中的信号重叠，难以直接分辨不同异构体的特性[41]。除此之外，PROTAC 分子常因其结构的复杂性（如疏水和亲水片段）、静电效应及三元复合物形成的动态特性等，与分析装置或材料（如质谱分析管道或色谱柱）的表面发生非特异性吸附作用，影响生物分析的准确性[42]。

针对上述挑战，笔者提出以下优化意见：①优化色谱条件，采用含酸的有机相、高起始比例有机相、平缓分离的梯度；降低离子源温度，以降低可能的源裂解来提高信号；必要时，提高柱温或采用 100 mm 及以上的高分离能力色谱柱以实现对手性异构体的分离。②非特异性吸附，方法开发过程中采用低吸附耗材，并建议储备液 / 工作液均以高有机相进行配制；必要时添加一定比例解吸附剂。③对于可能存在的手性异构体，提前在预实验中进行分析考察。

4 结语

目前，超过 25 种小分子 PROTAC 正在进行临床研究，涵盖了多种疾病领域，在恶性肿瘤、炎症及心血管疾病等诸多领域取得一定进展。但 PROTAC 药物的独特结构及作用机制使其药代动力学特征较差，在生物分析检测方面也面临极大挑战。因此，对其药代动力学特征进行分析总结，能够更好地优化设计，得到更高效的 PROTAC 分子。同时本文就现阶段 PROTAC 药物生物分析方法的开发情况进行概述，并提出了针对性的见解和思考。未来促进其药理学和药代动力学特性临床转化，将成为突破 PROTAC 药物创新研发的关键。

参考文献：

[1] ZENG SX, YE YQ, XIA HY, *et al*. Current advances and development strategies of orally bioavailable PROTACs[J]. Eur J Med Chem, 2023, 261: 115793.

[2] LI X, SONG YC. Proteolysis-targeting chimera (PROTAC) for targeted protein degradation and cancer therapy[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 50.

[3] 王熙敏, 张程亮, 陈云舟. 靶向蛋白降解技术的特点与研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(10): 1170-1175.

[4] Price E, Weinheimer M, Rivkin A, *et al*. Beyond rule of five and PROTACs in modern drug discovery: polarity reducers, chameleonicity, and the evolving physicochemical landscape[J]. J Med Chem, 2024, 67(7): 5683-5698.

[5] GE JX, LI SM, WENG GQ, *et al*. PROTAC-DB 3.0: an updated database of PROTACs with extended pharmacokinetic parameters[J]. Nucleic Acids Res, 2025, 53(D1): D1510-D1515.

[6] BHUMIREDDY A, BANDARU NVMR, REDDY BR, *et al*. Design, synthesis, and biological evaluation of phenyl thiazole-based AR-V7 degraders[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2022, 55: 128448.

[7] HAN X, ZHAO LJ, XIANG WG, *et al*. Strategies toward discovery of potent and orally bioavailable proteolysis targeting chimera degraders of androgen receptor for the treatment of prostate cancer[J]. J Med Chem, 2021, 64(17): 12831-12854.

[8] KIM GY, SONG CW, YANG YS, *et al*. Chemical degradation of androgen receptor (AR) using bicalutamide analog-thalidomide PROTACs[J]. Molecules, 2021, 26(9): 2525.

[9] CECCHINI C, TARDY S, SCAPOZZA L. Linkers as game-changers in PROTAC technology: Emphasizing general trends in PROTAC pharmacokinetics for their rational design[J]. Chimia (Aarau), 2022, 76(4): 341-345.

[10] CANTRILL C, CHATURVEDI P, RYNN C. Fundamental aspects of DMPK optimization of targeted protein degraders[J]. Drug Discov Today, 2020, 25(6): 969-982.

[11] REJ R K, ALLU S R, ROY J, *et al*. Orally bioavailable

proteolysis-targeting chimeras: an innovative approach in the golden era of discovering small-molecule cancer drugs[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(4): 494.

[12] WANG YT, PRICE E, FENG M, *et al*. High-throughput SFC-MS/MS method to measure EPSA and predict human permeability[J]. J Med Chem, 2024, 67(16): 13765-13777.

[13] ERMONDI G, JIMENEZ DG, SEBASTIANO MR, *et al*. Rational control of molecular properties is mandatory to exploit the potential of PROTACs as oral drugs[J]. ACS Med Chem Lett, 2021, 12(7): 1056-1060.

[14] MAPLE HJ, CLAYDEN N, BARON A, *et al*. Developing degraders: principles and perspectives on design and chemical space[J]. Med Chem Comm, 2019, 10(10): 1755-1764.

[15] EDMONDSON S D, YANG B, FALLAN C. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs) in " beyond rule-of-five" chemical space: recent progress and future challenges[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2019, 29(13): 1555-1564.

[16] JIMENEZ DG, SEBASTIANO MR, VALLARO M, *et al*. IMHB-Mediated chameleonicity in drug design: a focus on structurally related PROTACs[J]. J Med Chem, 2024, 67(13): 11421-11434.

[17] HAN X, WANG C, QIN C, *et al*. Discovery of ARD-69 as a highly potent proteolysis targeting chimera (PROTAC) degrader of androgen receptor (AR) for the treatment of prostate cancer[J]. J Med Chem, 2019, 62(2): 941-964.

[18] MARES A, MIAH AH, SMITH IED, *et al*. Extended pharmacodynamic responses observed upon PROTAC-mediated degradation of RIPK2[J]. Commun Biol, 2020, 3(1): 140.

[19] WEI MM, ZHAO R, CAO YT, *et al*. First orally bioavailable prodrug of proteolysis targeting chimera (PROTAC) degrades cyclin-dependent kinases 2/4/6 *in vivo*[J]. Eur J Med Chem, 2021, 209: 112903.

[20] ZOU ZF, YANG L, NIE HJ, *et al*. Tumor-targeted PROTAC prodrug nanoplatform enables precise protein degradation and combination cancer therapy[J]. Acta Pharmacol Sin, 2024, 45(8): 1740-1751.

[21] YANG WZ, GADGIL P, KRISHNAMURTHY VR, *et al*. The evolving druggability and developability space: Chemically modified new modalities and emerging small molecules[J]. AAPS J, 2020, 22(2): 21.

[22] VOLAK LP, DUEVEL HM, HUMPHREYS S, *et al*. Industry perspective on the pharmacokinetic and absorption, distribution, metabolism, and excretion characterization of heterobifunctional protein degraders[J]. Drug Metab Dispos, 2023, 51(7): 792-803.

[23] RICCARDI K, CAWLEY S, YATES PD, *et al*. Plasma protein binding of challenging compounds[J]. J Pharm Sci, 2015, 104(8): 2627-2636.

[24] SEVERINI LL, BUFALIERI F, INFANTE P, *et al*. Proteolysis-targeting chimera (PROTAC): Is the technology looking at the treatment of brain tumors?[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 854352.

[25] KURIMCHAK AM, HERRERA-MONTAVEZ C, MONTSERRAT-SANGRA S, *et al*. The drug efflux pump MDR1 promotes intrinsic and acquired resistance to PROTACs in cancer cells[J]. Sci Signal, 2022, 15(749): eabn2707.

[26] ZHANG NY, HOU DY, HU XJ, *et al*. Nano proteolysis targeting chimeras (PROTACs) with anti-hook effect for tumor therapy[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2023, 62(37): e202308049.

[27] XU KX, WANG Z, XIANG ST, *et al*. Characterizing the cooperative effect of PROTAC systems with end-point binding free energy calculation[J]. J Chem Inf Model, 2024, 64(19): 7666-7678.

[28] HALLIFAX D, TURLIZZI E, ZANELLI U, *et al*. Clearance-dependent underprediction of *in vivo* intrinsic clearance from human hepatocytes: comparison with permeabilities from artificial membrane (PAMPA) assay, in silico and caco-2 assay, for 65 drugs[J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 45(5): 570-574.

[29] GORACCI L, DESANTIS J, VALERI A, *et al*. Understanding the metabolism of proteolysis targeting chimeras (PROTACs): The next step toward pharmaceutical applications[J]. J Med Chem, 2020, 63(20): 11615-11638.

[30] XU MS, GU XF, LI C, *et al*. A novel FAK-degrading PROTAC molecule exhibited both anti-tumor activities and efficient MDR reversal effects[J]. Acta Pharmacol Sin, 2024, 45(10): 2174-2185.

[31] ZHANG DL, MA B, DRAGOVICH PS, *et al*. Tissue distribution and retention drives efficacy of rapidly clearing VHL-based PROTACs[J]. Commun Med (Lond), 2024, 4(1): 87.

[32] NGUYEN TTL, KIM JW, CHOI HI, *et al*. Development of an LC-MS/MS method for ARV-110, a PROTAC molecule, and applications to pharmacokinetic studies[J]. Molecules, 2022, 27(6): 1977.

[33] NIESSEN J, NILSSON JM, PETERS K, *et al*. Development and validation of LC-MS/MS methods for the pharmacokinetic assessment of the PROTACs bavdeglutamide(ARV-110) and vepdegestrant(ARV-471)[J]. J Pharm Biomed Anal, 2024, 249: 116348.

[34] WANG Y, WANG ZY, WANG XW, *et al*. Establishment and validation of a sensitive LC-MS/MS method for the quantification of KRAS G12C protein PROTAC molecule LC-2 in rat plasma and its application to *in vivo* pharmacokinetic studies of LC-2 PEGylated liposomes[J]. Biomed Chromatogr, 2023, 37(6): e5629.

[35] 王鹏伟. PROTACs前体化合物的合成研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2021.

[36] KANG LJ, WENG ND, JIAN WY. LC-MS bioanalysis of intact proteins and peptides[J]. Biomed Chromatogr, 2020, 34(1): e4633.

[37] ROY MJ, WINKLER S, HUGHES SJ, *et al*. SPR-Measured dissociation kinetics of PROTAC ternary complexes influence target degradation rate[J]. ACS Chem Biol, 2019, 14(3): 361-368.

[38] RICHING KM, MAHAN S, CORONA CR, *et al*. Quantitative live-cell kinetic degradation and mechanistic profiling of PROTAC mode of action[J]. ACS Chem Biol, 2018, 13(9): 2758-2770.

[39] KOZIOLEK M, AUGUSTIJNS P, BERGER C, *et al*. Challenges in permeability assessment for oral drug product development[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(10): 2397.

[40] VERMA S, MANNA D. Controlling PROTACs with light[J]. Chem Med Chem, 2020, 15(14): 1258-1261.

[41] LEE M, WU JP, LEE J, *et al*. A chiral pool strategy for the synthesis of a SMARCA2 degrading PROTAC[J]. Org Pro Res Dev, 2024, 28(4): 1239-1252.

[42] MALARVANNAN M, RAVICHANDIRAN V, PAUL D. Advances in analytical technologies for emerging drug modalities and their separation challenges in LC-MS systems[J]. J Chromatogr A, 2024, 1732: 465226.

（编辑：王 佳）